

黄色ブドウ球菌検出培地の性能比較 (第2報)

Comparison of Selection Media for the Detection of *Staphylococcus aureus* (2nd Report)

池田 徹也 森本 洋 清水 俊一 山口 敬治

Tetsuya IKEDA, Yo MORIMOTO, Shunichi SHIMIZU and Keiji YAMAGUCHI

Key words : *Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌) ; egg yolk reaction (卵黄反応) ; cheese (チーズ)

食品中の黄色ブドウ球菌検査において、食品衛生検査指針では卵黄加マンニット食塩培地 (MSEY) やベアード・パーカー培地 (BP) を用いた検査法が記載されている。日本では BP に比べて MSEY を使用することが多い¹⁾。MSEY は黄色ブドウ球菌の 7.5%NaCl 存在下での発育、マンニット分解性、卵黄反応陽性等の性状を利用した分離培地である。この培地は、特徴的な集落の形成により黄色ブドウ球菌を識別しやすいが、損傷菌に対して発育抑制することが知られている²⁾。一方、海外で広く使用されている BP は損傷菌の発育を抑制しないことから、菌数測定に適しているとの報告がある³⁾。

最近、黄色ブドウ球菌用培地としてクロモアガー社のクロモアガー・スタッフアウレウス培地 (CSA) や日水製薬㈱の X-SA 培地 (X-SA) 等の酵素基質系培地が開発・販売されている。これらの酵素基質系培地は 24 時間の培養で判定できること、卵黄反応陰性株も検出しやすい等の利点がある。また、食品検査を自主的に行っている施設ではペトリフィルムブドウ球菌 STX プレート (STX, 3M)、コンパクトドライ卵黄加マンニット食塩培地 (CD, 日水) 等の簡易型培地を用いて検査することがある。これらの培地は、調製済みであり、検査者にとって簡便な仕様になっている。

著者らはこれまでに黄色ブドウ球菌野生株を用いて、表面塗抹法で菌数を測定した場合、BP, MSEY, CSA, X-SA のいずれの培地を用いても、菌数の差が認められないことを既に明らかにした³⁾。本報では、簡易型培地について、同様に野生株を用いた調査を行った。さらに、ナチュラルチーズの定性試験において、表面塗抹法と比較を行ったので報告する。

材料及び方法

1. 使用菌株

由来や性状の異なる野生株 16 株 (表 1) を試験に用い

た。野生株はコアグラゼ試験, DNase 試験, PCR による耐熱性ヌクレアーゼ遺伝子検査⁴⁾, マンニット分解試験, MSEY 培地上での卵黄反応試験を行い、菌種を同定した。非典型的な株に関しては、グラム染色, カタラーゼ試験, VP 試験, クランピングファクター試験を追加し、同定した。

2. 野生株による試験

野生株 16 株をトリプトソイブイオンで 37°C, 24 時間培養した。この培養液を滅菌生理食塩水で適宜希釈したものを試験液とし、その 0.1 mL をトリプトソイ寒天培地 (TSA) 2 枚に塗抹し、37°C で 24 時間培養した後、菌数を測定した。さらに、この試験液の 10 倍希釈液 1 mL を STX 及び CD それぞれ 2 枚ずつに接種して、製品のマニュアルに従って菌数測定を行った。同時に試験液の 10 倍希釈液 1 mL をそれぞれ 2 枚の標準寒天培地 (SMA)

表 1 使用した黄色ブドウ球菌 (野生株) 一覧

No.	由来	se 遺伝子 (sea-sei)	マンニット 分解性	卵黄反応	備考
1	食品	sea	+	+	食中毒
2	生乳	seb	+	+	
3	食肉	sec	+	+	
4	食肉	sed	+	+	
5	食肉	see	+	+	
6	チーズ	seg, sei	+	+	
7	生乳	seh	+	+	
8	便(サル)	sei	+	+	
9	チーズ	—	+	+	
10	生乳	sec, seg, sei	+	—	
11	生乳	sec, seg, sei	—	—	
12	生乳	—	—	+	
13	吐物	sea, seb, seh	+	+	食中毒
14	便	sea, sec	+	+	食中毒
15	便	sea, seh	+	+	食中毒
16	温泉水	—	+	+	

で 37°C24 時間混釈培養し、菌数を測定した。各培地で測定した菌数は TSA で測定した菌数と比較して、それぞれの菌数比を求めた。これらの試験を、CD と SMA は 1 回ずつ、STX は 3 回繰り返し行い、その平均値を求めた。

3. ナチュラルチーズに対する試験

既に 25 g 中黄色ブドウ球菌陽性と判定されているナチュラルチーズ 12 個を検体とした。チーズをそれぞれ 10 g ずつ量り取り、90 mL の滅菌 0.1% ペプトン加生理食塩水を加え、30 秒間ストマッキングし、試験液とした。2 枚の STX に試験液を 1 mL ずつ添加し、マニュアルに従って黄色ブドウ球菌の判定を行った。

結果と考察

由来や性状の異なる黄色ブドウ球菌野生株を用いて、適量の試験液を接種し培養する簡易培地である STX や CD について評価を行った。

野生株 16 株に対して行った菌数測定では、TSA で測定した菌数を 1 としたとき、STX、CD、SMA を用いた菌数はそれぞれ 0.47、0.44、0.64 の値を示した (図 1)。TSA の菌数は、MSEY、BP、CSA、X-SA による菌数とほとんど変わらないため³⁾、実際の検体を STX や CD で測定した場合、MSEY、BP、CSA、X-SA よりも低い菌数になる可能性がある。このことは、STX や CD のように試験液を接種するだけの方法や試験液を SMA で混釈して用いるなど、試験液の培地への接種法の違いが集落数に影響を及ぼしたものと考えられる。

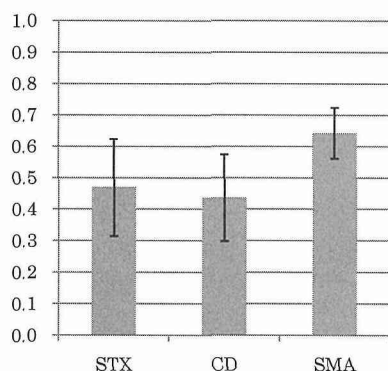


図 1 野生株の各培地での菌数
TSA の菌数を 1 としたときの各培地の菌数の相対表示。

表 2 チーズの黄色ブドウ球菌検出率

培地名	12 検体中の陽性数
STX	4
X-SA ³⁾	2
CSA ³⁾	2
MSEY ³⁾	3
BP ³⁾	5

STX や CD は表面塗抹法に比べ多くの試験液を接種できる利点がある。表面塗抹法で黄色ブドウ球菌の判定や菌数測定を行う場合、食品衛生検査指針によれば 1 平板当たり 0.1 mL の接種を行うことになっている¹⁾。これに対し、STX や CD の場合、10 倍量の 1 mL を接種することになっている。つまり、STX や CD を用いた場合でも、多量の試験液が使用できることで表面塗抹法と同程度かそれ以上の陽性検出率が得られる可能性が考えられる。

実際、STX による検査を行ったところ、25 g 中黄色ブドウ球菌陽性と判定されたチーズ検体に対して、BP の陽性検出 5 検体には届かなかったが、12 検体中 4 検体が陽性と判定できた (表 2)。この値は、MSEY の 3 検体、X-SA 及び CSA の 2 検体よりも高い陽性検出値であった³⁾。

以上のことから、STX や CD のような簡易型培地では、測定される菌数の値は低くなる可能性がある。しかし、表面塗抹法と比べると、操作が極めて簡便であり、陽性検出感度にも大きな違いが認められない。これらのことから、黄色ブドウ球菌の試験培地として十分に利用価値があると考えられる。

文 献

- 1) 品川邦汎：食品衛生検査指針微生物編，社団法人日本食品衛生協会，東京，2004，pp.236-248
- 2) 寺山 武：新訂食水系感染症と細菌性食中毒，中央法規出版，東京，2000，pp.454-472
- 3) 池田徹也，森本 洋，清水俊一，駒込理佳，山口敬治：道衛研所報，58，47-49 (2008)
- 4) Brakstad OG, Aasbakk K, Maeland JA : J. Clin. Microbiol., 30, 1654-1660 (1992)